Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN VON LEBERMITOCHONDRIEN NACH 2/3 - TEILHEPATEKTOMIE

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Thomas Höhn
aus Kulmbach

Würzburg, den 16.1.1981

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

MORPHOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN VON LEBERMITOCHONDRIEN NACH 2/3 - TEILHEPATEKTOMIE

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Thomas Höhn
aus Kulmbach

Würzburg, den 16.1.1981

Referent:	Professor Dr. med. U. Pfeifer
Korreferent:	Professor Dr. med. H.-W. Altmann
Dekan:	Professor Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 15.5.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methodik	2
	1. Versuchstiere und Versuchsplan	2
	2. Gewebsverarbeitung	3
	3. Morphometrische Verfahren	4
III.	Ergebnisse	7
	1. Volumenanteil der Mitochondrien im Cytoplasma	7
	2. Mittlere Profilflächen der Mitochondrien	7
	3. Mittlere Umfangslängen der Mitochondrien	8
	4. Formfaktor	8
	5. Häufigkeitsverteilungen für Profilflächen und Umfangslängen in den einzelnen Serien	8
IV.	Diskussion	11
V.	Zusammenfassung	15
VI.	Tabellen und graphische Darstellungen	
VII.	Literaturverzeichnis	

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0083

I. EINLEITUNG

Obwohl die erste Beschreibung von Mitochondrien fast 9o Jahre zurückliegt (Altmann, 189o), und obwohl uns die mitochondrale Struktur seit Beginn der elektronenmikroskopischen Ära durch Arbeiten von Palade (1952/1956), Sjöstrand (1953), Rhodin (1954) und Bada (1964) bekannt ist, wissen wir noch verhältnismäßig wenig über morphologisch faßbare Phänomene, wie sie im Zusammenhang mit der Vermehrung dieser Zellorganellen beim regenerativen Zellersatz in Geweben auftreten. Bei solchen Regenerationsvorgängen kommt es nicht nur zu einer Vermehrung der DNA und zu Kern- und Zellteilungen sondern auch zur Vermehrung aller Bestandteile des Cytoplasmas; nur so wird gewährleistet, daß nach der Zellteilung funktionell vollwertige Tochterzellen entstehen. Da die Mitochondrien eine gewisse genetische Eigenständigkeit besitzen und auch aller Wahrscheinlichkeit nach sich durch Teilung vermehren können (Storrie und Attardi, 1973), erscheint die Frage wichtig, ob Vorgänge, die mit der Mitochondrienvermehrung in Zusammenhang zu bringen sind, gleichzeitig oder mehr oder weniger unabhängig vom Ablauf der DNA-Synthese und der Kern- und Zellteilung auftreten.

Die zuletzt genannten Vorgänge sind in ihrem zeitlichen Ablauf besonders gut bei der Leberregeneration nach 2/3-Teilhepatektomie untersucht (Stöcker, 1966); Rabes, 1976). In der Leber findet man beim ausgewachsenen Tier nur ganz verschwindend wenige Zellteilungen. Die Zellen haben eine lange Lebensdauer, weshalb man das Organ zu den stabilen Geweben rechnet (Altmann, 1966). Entfernt man operativ 2/3 des Lebergewebes, so kommt es binnen 24 Stunden zu einer lebhaften Zellteilung, an der sich bis zur Wiederherstellung des Organgewichtes etwa 9o % aller Zellen beteiligen (Stöcker und Heine, 1971)

Das Verhalten der Mitochondrien bei der Leberregeneration ist bereits Gegenstand qualitativer und quantitativer elektronenmikroskopischer Untersuchungen gewesen. Mit den von Weibel (1969) und Loud (1968) in die Elektronenmikroskopie eingeführten stereologischen Methoden konnten aber bislang für die verschiedensten Parameter immer nur Mittelwerte angegeben werden, so zum Beispiel für das Mitochondrienvolumen, das sich aus der Anzahl der Mitochondrienprofile pro Flächeneinheit und aus ihrem Flächenanteil errechnen läßt.

Durch eine Neuentwicklung gerätetechnischer Art ist es möglich geworden, Einzelprofile auf rationelle Weise zu vermessen. Es erschien daher lohnend, Mitochondrienprofile bei 2/3teilhepatektomierten und bei scheinoperierten Ratten auszuwerten, um so zur Frage Stellung zu nehmen, ob Änderungen in der Größenverteilung der Mitochondrienpopulation auftreten. Bei den bisher durchgeführten Bestimmungen des mittleren Einzelvolumens waren soche Änderungen nicht faßbar.

Unter Berücksichtigung tageszeitlicher Schwankungen umfassen die vorliegenden Untersuchungen jeweils die Hellperiode des ersten, zweiten und dritten postoperativen Tages sowie die Frühphase zwischen 4 und 19 Stunden nach dem Eingriff.

II. MATERIAL und METHODIK

1. Versuchstiere und Versuchsplan

Das Material für die vorliegenden Untersuchungen stand aus bereits durchgeführten Versuchen (Pfeifer, 1979) zur Verfügung. Es stammte von insgesamt 112 männlichen Albinoratten vom Stamm Sprague-Dawley

(mittleres Tiergewicht 23og). Bei der Hälfte der Tiere war eine 2/3 - Teilresektion der Leber durchgeführt worden (Higgins und Anderson, 1931), bei der anderen Hälfte eine Scheinoperation in Form einer Laparotomie mit anschließender Vorverlagerung des mittleren und linken Leberlappens. Die Operationen wurden in insgesamt 4 Serien (28 Tiere pro Serie) jeweils zwischen 11^h und 13^h durchgeführt; die Tiere waren mit Äther anäthesiert.

Je zwei teilhepatektomierte und scheinoperierte Ratten wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Operation getötet.
Die erste Serie umfaßt einen Zeitraum zwischen 4 und 17 Stunden nach dem Eingriff. Die Tötung erfolgte zwischen 15 und 16 Uhr.
In der zweiten Serie wurde der Zeitraum zwischen 19 und 33 Stunden,
in der dritten zwischen 43 und 57 Stunden
und in der vierten zwischen 67 und 81 Stunden erfaßt.
In diesen Serien lagen die Tötungszeitpunkte jeweils um 8, 1o, 12, 14, 16, 18 und 2o Uhr.

2. Gewebsverarbeitung

Das Lebergewebe wurde unmittelbar nach der Tötung in kleine Würfel von ca. 1mm Kantenlänge geschnitten und in 1,5 %igem Osmiumtetroxyd in Phosphatpuffer fixiert. Nach Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe wurde es über Propylenoxyd in Epon eingebettet. Für die Elektronenmikroskopie wurde von giemsagefärbten Semidünnschnitten ein Parenchymbezirk ausgewählt, der einem Periportalfeld unmittelbar benachbart lag; die Dünnschnitte dieser Bereiche (Reichert - Ultramikrotom OMU 2) wurden mit Bleizitrat nachkon-

trastiert. Zur Untersuchung dieser Dünnschnitte diente das Siemens-Elmiskop 51.

3. Morphometrische Verfahren

Von jedem Tier wurden 5 - 7 elektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt, wobei der jeweilige Bildausschnitt nach Zufälligkeitskriterien ausgewählt wurde. Die Vergrößerung auf den Planfilmen (6,5 x 9 cm) betrug 5 ooo; kontrolliert wurde die Vergrößerung durch Kontrollaufnahmen eines Eichmaßstabes (11o24 Linien/cm). Bei diesen Kontrollen stellte sich heraus, daß bei der ersten Serie infolge fehlerhafter Objektlage im Mikroskop die Vergrößerung nur 4 25o betragen hatte, was bei den weiteren Messungen an 3fach vergrösserten Papierbildern berücksichtigt wurde.

Die morphometrische Auswertung der Mitochondrieneinzelprofile wurde anhand der Papierbilder mit Hilfe eines elektronischen Meßgerätes für die quantitative Bildanalyse (MOP/AMO 1, Fa. Kontron, Eching bei München) durchgeführt. Das Gerät besteht aus einer elektronischen Zähl- und Speichereinheit. Das Meßsystem arbeitet mit einem hochauflösenden Auswertetablett und Auswertestiften. Damit werden für jeden Bildpunkt innerhalb des Meßfeldes absolute x-y Koordinaten gemessen, die auf einen festen Nullpunkt bezogen sind. Das Meßprinzip beruht auf der Messung magnetostriktiver Wellen in Stahldraht, der in x- und y-Richtung angeordnet ist. Beim Umfahren der zu messenden Bildstrukturen (Mitochondrien) werden alle zu dieser Struktur gehörenden Koordinaten unmittelbar in absolute Flächen- und Längenwerte umgesetzt. Die Auflösung des Auswertetabletts beträgt o,2 mm. Durch einen einzigen Meßvorgang kann die Anzahl, die Fläche, die Länge des Umfangs sowie die Flächen-Längenverteilung (Klassifizierung) für jede Bildkomponente erfaßt werden.

Bestimmt wurden zunächst - für jeden Versuchszeitpunkt getrennt - Anzahl, Gesamtflächen und Gesamtumfang der Mitochondrien. Gleichzeitig erfolgte eine Klassifizierung der einzelnen Mitochondrien, getrennt nach Fläche und Umfang. Die Anzahl der gewählten Klassen betrug 4o, die Klassenbreite für die Flächenklassifizierung 2o qmm (entsprechend o,o89 µ in Serie 2 - 4 und o,123 µ in Serie 1), für die Längenklassifizierung 3 mm (entsprechend o,2 µ in Serie 2 - 4 und o,236 µ in Serie 1).

Die für die einzelnen Versuchszeitpunkte erhaltenen Häufigkeitsverteilungen zeigten - offenbar wegen einer noch zu geringen Anzahl - erhebliche unsystematische Schwankungen. Es wurden deshalb für weitere Berechnungen zunächst lediglich die Mittelwerte von Teilhepatektomierten und von Scheinoperierten für folgende Parameter errechnet:

1. mittlere Fläche der Mitochondrienprofile aus Gesamtfläche und Anzahl
2. mittlere Umfangslänge der Mitochondrienprofile aus Gesamtlänge und Anzahl
3. Formfaktor: Dieser Faktor gibt an, wie stark die Mitochondrienprofile von der Kreisform abweichen; er errechnet sich aus $l^2/f \cdot 47$
   Bei kreisförmigen Profilen wird er 1,o; bei einem Verhältnis großer zu kleiner Durchmesser einer Elipse wie 1 : 2 beträgt der Formfaktor 1,125.
4. Volumenanteil der Mitochondrien im Cytoplasma: Dieser Parameter gibt an, wie groß das Volumen der Mitochondrien im Einheitsvolumen Cytoplasma ist. Die Größe des Einzelmitochondrions spielt dabei keine Rolle. Einfachstes Verfahren zur Ermittlung dieses Parameters ist das Punktzählverfahren. Dazu wurden die elektromikroskopischen Bilder mit einem Punktraster bedeckt, wobei der Punktabstand 1,4 cm betrug. Der Anteil der über

Mitochondrienprofilen gelegenen Punkte an der Gesamtzahl der über Cytoplasmaausschnitten gelegenen Punkte entspricht nach Weibel (1969) dem gesuchten Volumenanteil.

Die pro Versuchsserie vonTeilhepatektomierten und Scheinoperierten erhaltenen Kollektive von je 7 Einzelwerten für die unter 1 -4 genannten Parameter wurden dann mit Hilfe des Student-t-Testes miteinander verglichen (vgl. Tabelle I und Abb. 1).

Häufigkeitsverteilungen von Flächen (Abb. 2-5) und Umfangslängen (Abb. 6-9) der Mitochondrienprofile wurden durch Addition der Einzelverteilungen jeweils einer gesamten Serie für Scheinoperierte und Teilhepatektomierte ermittelt. Die Ergebnisse wurden einmal in Form von Histogrammen dargestellt, wobei die absolute Anzahl (Ordinate) in jeder Flächen- bzw. Längenklasse (Abszisse) eingetragen wird. Außerdem wurde die prozentuale Besetzung in den einzelnen Klassen ermittelt. Durch schrittweise Addition dieser Werte wurden Kurven für die relative Summenhäufigkeit erhalten.

Um zu prüfen, ob die gefundenen Häufigkeitsverteilungen der Teilhepatektomierten sich von denen der Scheinoperierten statistisch gesehen unterscheiden, wurde der Test von Kolmogoroff und Smirnoff (nach Sachs, 1972) angewandt, der als der schärfste Homogenitätstest Unterschiede der Verteilungsform aller Art erfaßt. Prüfgröße ist die größte Ordinatendifferenz ($\hat{D}$) zwischen den beiden relativierten Summenhäufigkeitskurven. Diese wird verglichen mit dem Wert der Prüfverteilung, der aus der Gesamtzahl n_1 und n_2 für die verschiedenen Irrtumswahrscheinlichkeiten α berechnet werden kann. Ein signifikanter Unterschied kann dann angenommen werden, wenn der Wert $\hat{D}$ den Wert D_α erreicht oder übersteigt (vgl. Tabelle II).

III. ERGEBNISSE

In der Abbildung 1 sind für die verschiedenen berechneten Parameter die Gruppenmittelwerte (je 2 Versuchstiere) der Scheinoperierten und der Teilhepatektomierten gegen die Zeitachse aufgetragen. Systematische Schwankungen in Abhängigkeit von der Tageszeit lassen sich dabei nicht erkennen.

Der Volumenanteil der Mitochondrien im Cytoplasma schwankt bei den Scheinoperierten um einen mittleren Wert von etwa 21 %. Bei den teilhepatektomierten Tieren findet man fast durchwegs etwas niedrigere Werte. Am wenigsten ausgeprägt ist der Unterschied mit - 5% in der ersten Serie (4 - 17 Stunden nach der Operation). Beim statistischen Vergleich der beiden Mittelwertskollektive erweist sich dieser Unterschied als nicht signifikant (Tabelle I). In den übrigen Serien (1., 2. und 3. postoperativer Tag) ist der Volumenanteil bei den Teilhepatektomierten signifikant kleiner als bei den Scheinoperierten. Am größten und hochsignifikant ($p<0{,}001$) ist die Differenz von 19% am 2. postoperativen Tag (Serie 3).

Für die mittleren Profilflächen der Mitochondrien findet man in der frühen postoperativen Phase praktisch keinen Unterschied. Bei den Teilhepatektomierten liegt der aus den Gruppenmittelwerten errechnete Serienmittelwert nur um 2% über dem der Scheinoperierten, was sich statistisch nicht sichern läßt. Im weiteren Verlauf sind die Mittelwerte bei den Teilhepatektomierten niedriger als bei den Scheinoperierten. Die Differenz ist mit - 13% wiederum am ausgeprägtesten am 2. postoperativen Tag. Die Irrtumswahrscheinlichkeit ist hier kleiner als 5% (Tabelle I). Am 3. postoperativen Tag ist praktisch keine Differenz mehr erkennbar.

Prinzipiell gleichartig verhalten sich die Werte für die mittleren Umfangslängen der Mitochondrienprofile. Auch hier zeigt sich in der Frühphase und am 3. postoperativen Tag praktisch kein Unterschied. Die größte Differenz findet man wiederum am 2. postoperativen Tag (Abb. 8), wo der Mittelwert bei den Teilhepatektomierten um 3,5% niedriger liegt als bei den Scheinoperierten. Die Differenz läßt sich allerdings statistisch nicht sichern (Tab.1)

Der aus den Gruppenmittelwerten für Profilfläche und Umfangslänge errechnete Formfaktor ist in der 1. Serie bein Scheinoperierten und Teilhepatektomierten nahezu gleich und in der 4. Serie sogar identisch (Tabelle I). Am 1. und 2. postoperativen Tag ergibt sich für die Teilhepatektomierten jeweils ein höherer Wert als für die Scheinoperierten, d.h., die Mitochondrienprofile in der regenerierenden Leber weichen stärker von der Kugelform ab als in der Leber scheinoperierter Tiere; für den 2. postoperativen Tag ist der Unterschied hochsignifikant.

Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß in der vorliegenden Arbeit Vergleiche jeweils nur innerhalb einer Serie angestellt werden können. Die Betrachtung der Tabelle I zeigt, daß beispielsweise die Werte bei den Scheinoperierten von Serie zu Serie unterschiedlich sind. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die 4 Versuchsserien 4 separate Tierkollektive darstellen, die zu verschiedenen Zeiten im Versuch verwendet worden sind. Außerdem sind gewisse Änderungen der Fixations- und Einbettungsbedingungen von Serie zu Serie nicht völlig auszuschließen.

Die Darstellung der Häufigkeitsverteilungen für Profilflächen (Abb. 2 - 5) und Umfangslängen (Abb. 6 - 9)

ergibt in allen Fällen eingipfelige Kurven. Die Histogramme für die Profilflächen zeigen eine deutliche positive Schiefe, d.h., im Bereich der kleineren Massen steigt die Verteilungskurve ziemlich steil an, um nach rechts - im Bereich der großen Massen - flach auszulaufen. Dagegen ergeben die Histogramme der Umfangslängen glockenförmige, annähernd symmetrische Verteilungen.

In der 1. Serie findet man in den Klassen kleiner Fläche bei den Teilhepatektomierten größere Besetzungszahlen als bei den Scheinoperierten. Entsprechend verläuft die relativierte Summenhäufigkeitskurve für die Teilhepatektomierten über der der Scheinoperierten. Im oberen Bereich der relativierten Summenhäufigkeitskurven findet man ein umgekehrtes Verhalten, was dadurch bedingt ist, daß der 100%-Wert bei den Teilhepatektomierten erst im Bereich sehr viel größerer Klassen - zwischen 3 und 4 μ^2 - erreicht wird als bei den Scheinoperierten. Die größeren Besetzungszahlen werden durch den geänderten Maßstab in den oberen Histogrammklassen deutlich. Bei den Teilhepatektomierten sind also sowohl die unteren als auch die oberen Klassen stärker besetzt, was bedeutet, daß einerseits kleine Mitochondrien, andererseits auch große Mitochondrien vermehrt sind. Der Ordinatenunterschied erreicht im Anfangsteil der Kurve den für 5% Irrtumswahrscheinlichkeit geforderten Wert (Tabelle II). Abgesehen vom unterschiedlichen Verteilungstyp ergibt die Klassierung der Umfangslängen analoge Unterschiede zwischen den Teilhepatektomierten und den Scheinoperierten. Auch hier überschneiden sich die Kurven für die relativierten Summenhäufigkeiten, und auch hier ist der Unterschied im Anfangsteil der Verteilung signifikant (Tabelle II).

In der 2. und 3. Serie, also am 1. und 2. postoperativen Tag, sind sowohl bei den Flächen (Abb. 3 und 4)

als auch bei den Umfangslängen (Abb. 7 und 8) nach Teilhepatektomie die kleineren Klassen stärker und die großen schwächer besetzt als nach Scheinoperationen. Hier ist also die gesamte Verteilung nach links verschoben und entsprechend findet auch keine Überschneidung der Kurven für die relativierte Summenhäufigkeit statt. Im Kolmogoroff-Smirnoff-Test sind in beiden Serien die Verteilungen für Flächen und Umfangslängen zwischen Teilhepatektomierten und Scheinoperierten statistisch signifikant unterschieden. Die höchsten Werte der Prüfgröße $\hat{D}$ werden dabei am 2. postoperativen Tag gefunden, was mit den Mittelwertsdifferenzen (Tab. I) korreliert, die ebenfalls am 2. postoperativen Tag am ausgeprägtesten gefunden werden.

In der 4. Serie, also am 3. postoperativen Tag, zeigen die Flächen- und Längenverteilungen nur noch minimale Differenzen zwischen Teilhepatektomierten und Scheinoperierten. Entsprechen dicht beieinander liegen die Kurven der relativierten Summenhäufigkeiten (Abb. 5 und 9). Die Werte für die Prüfgröße $\hat{D}$ bleiben weit unter dem für eine 5%ige Irrtumswahrscheinlichkeit geforderten Wert (Tab. 2).

IV. DISKUSSION

Eine grundsätzliche Schwierigkeit bei der Interpretation der geschilderten Ergebnisse liegt in der Tatsache begründet, daß die ermittelten Verteilungen der Profilflächen und Umfangslängen nur indirekt etwas über die Größenverteilung der Mitochondrien selbst, d.h. ihrer Volumina, aussagen können. Für kugelförmige Gebilde läßt sich zwar rechnerisch eine Größenverteilung für Volumina gewinnen (Wicksel -Transformation, Weibel, 1969), jedoch kann im vorliegenden Falle nicht von exakt kreisförmigen Profilen ausgegangen werden; außerdem ist bei den flach auslaufenden Verteilungskurven die Festlegung der jeweils größten Klasse und die dann erforderliche schrittweise erfolgende Subtraktion der theoretischen Verteilung von Kalottenschnitten in dieser Klasse nicht ohne weiteres möglich. Da aber innerhalb der Verteilungskurven sich keine Hinweise für die Existenz von Größenklassen ergeben haben, waren auch bei einer Umrechnung in Volumina keine grundlegenden Änderungen der aus den vorliegenden Daten ablesbaren Tendenzen zu erwarten.

Der hauptsächliche Befund besteht in dem Auftreten einer relativ größeren Anzahl kleiner Mitochondrienprofile, was kaum anders zu deuten ist, als daß Mitochondrien kleineren Volumens einen größeren Anteil in der gesamten Mitochondrienpopulation einnehmen als bei den Scheinoperierten.

Obgleich der Mittelwert in der Frühphase (4 - 17 Std. p.o.) noch keine Unterschiede zeigt, sind die kleinen Mitochondrien in diesem Zeitraum deutlich vermehrt. Nur in dieser Zeitspanne werden auch größere Mitochondrien als im Kontrollkollektiv beobachtet. Die Verbreiterung der Größenverteilung könnte theoretisch dadurch hervorgerufen sein, daß zu Beginn dieses Zeitraumes eine ge-

nerelle Vergrößerung der Mitochondrien eintritt, die dann am Ende in einer starken Reduktion der Mitochondriengröße endet. Diese Möglichkeit ist aber auf Grund des zeitlichen Verlaufs der Mittelwertkurven (Abb. 1) weitgehend auszuschließen, da nirgendwo in dieser ersten Phase bei den Teilhepatektomierten ein derartiger Trend zu beobachten ist. Außerdem ist die Streuung für das Kollektiv der in diesem Zeitabschnitt erhaltenen Meßwerte keineswegs größer als in den übrigen Serien.

Es ist keineswegs klar, wie man diese Vergrößerung eines Teils der Mitochondrien zu verstehen hat. Im Zusammenhang mit Wachstumsvorgängen ist eine initiale Vergrösserung von Mitochondrien bislang nur in einem Falle, nämlich beim postnatalen Wachstum der Leber, beschrieben worden (Rohr und Mitarb., 1971). Es ist denkbar, daß ein Teil der Mitochondrienpopulation sich auch bei der kompensatorischen Leberregeneration in ähnlicher Weise verhält, also einen echten Wachstumsvorgang durchmacht, der aber dann keineswegs obligat sein kann, da bereits zur selben Zeit auch vermehrt kleine Mitochondrien auftreten. Die andere Möglichkeit der Entstehung großer Mitochondrien ist die Verschmelzung zweier oder mehrerer kleiner Mitochondrien, wie das beispielsweise bei der Genese der Riesenmitochondrien nach Cuprizon (Tandler u. Hoppel, 1973) oder der Mitochondrienvergrößerung nach Cortison (Kimberg u. Loch, 1972) angenommen wird.

Die im weiteren Verlauf immer deutlicher werdende Zunahme kleiner Mitochondrienprofile deckt sich mit verschiedenen Angaben aus der Literatur. So hat Bade (1964) bereits darauf hingewiesen, daß kleine Mitochondrien nach Teilhepatektomie häufiger seien als in Kontroll-Lebern. Am ausgeprägtesten fand er diese Veränderung zwischen 12 und 24 Stunden p.o., was unseren Befunden insofern

nicht entspricht, als sie diesen Effekt am ausgeprägtesten zwischen 43 und 57 Std. am 2. p.o.Tag zeigen. Auch Rohr u. Mitarb. (197o) berichten über eine Reduktion des mittleren Mitochondrienteilvolumens bei Teilhepatektomierten gegenüber Scheinoperierten, wobei die Unterschiede in der Zeit zwischen 24 und 36 Std. deutlich sind. Daß in der Frühphase bei Teilhepatektomierten und Scheinoperierten eine gleichsinnige Reduktion des mittleren Mitochondrienvolumens stattfindet (Rohr u. Mitarb., 197o), dafür hat man aufgrund der hier vorliegenden Befunde keinen Hinweis (Abb. 1). Erstaunlich gut stimmen unsere Ergebnisse mit Untersuchungen überein, die mit durchflußphotometrischer Messung isolierter Mitochondrien erzielt worden sind (Gear, 1971). Das Prinzip, daß während eines Wachstumsstimulus die Mitochondrien zunächst an Größe abnehmen, scheint auch für die Niere gültig zu sein (Cuppage u. Mitarb., 1973).

Die vorliegenden Ergebnisse erlauben einige Überlegungen zur Frage, ob die Vermehrung der Mitochondrien mit der Kern- und Zellteilung in irgendeiner Weise zeitlich korreliert abläuft. Eine recht enge derartige Beziehung wurde bei Studien an synchronisierten Amoeben beobachtet (Kolb-Bachofen; Vogell, 1975). Dabei ergaben sich Hinweise dafür, daß die Mitochondrienteilung im wesentlichen während der späten S-Phase erfolgt. Eine mit dem Zellzyklus synchrone, schrittweise Verdoppelung der Mitochondrienbestandteile wurde auch in Hefezellen beobachtet (Cottrell u. Avers, 197o). Dagegen fand man in Säugerzellkulturen keinen Hinweis für eine derartige Synchronie in der Mitochondrienteilung. Posakony u. Mitarb. (1977) fanden bei synchronisierten HeLa-Zellen in allen Phasen des Zellzyklus identische Verteilungen für verschiedene morphometrische Parameter der Mitochondrienprofile. Ferner liegen biochemische Befunde vor, wonach die Auswahl der mitochondralen DNA-Moleküle für die Re-

plikation über den Zellzyklus rein zufällig erfolgt (Bogenhagen u. Clayton, 1977). Auch im vorliegenden Material hat man keinen Hinweis für die Synchronie zwischen den mitochondralen Veränderungen und den Zellteilungswellen. Vergleicht man nämlich den Verlauf des in derselben Versuchsserie bestimmten Mitoseindex (Pfeifer, 1979 - Abb.3), so findet man keine eindeutige Beziehung zwischen dem ausgesprochen wellenförmigen, z.T. tageszeitabhängigen Verlauf der Mitosekurven einerseits und den morphometrischen Parametern der Mitochondrien andererseits (Abb.1).

V. Zusammenfassung

Lebergewebe, je 56 scheinoperierten und teilhepatektomierten männlichen Albinoratten in einem Zeitraum von 4 - 81 Std. p.o. entnommen, wurde elektronenoptisch untersucht, die Mitochondrieneinzelprofile morphometrisch ausgewertet. Bestimmt wurden dabei, für jeden Versuchszeitpunkt getrennt, Anzahl, Gesamtfläche und Gesamtumfang der Mitochondrien; gleichzeitig erfolgte eine Klassifizierung, getrennt nach Flächen und Umfangslängen.
Aus den erhaltenen Häufigkeitsverteilungen wurden im Anschluß die Mittelwerte für den mitochondralen Volumenanteil im Cytoplasma, die Profilfläche, den Profilumfang sowie der Formfaktor, als Maß für die Abweichung der Mitochondrienprofile von der Kreisform, bestimmt.
Die pro Versuchsserie von Teilhepatektomierten und Scheinoperierten erhaltenen Kollektive, für die obig genannten Parameter, wurden dann mit Hilfe des Student-t-Testes miteinander verglichen. Dabei zeigte sich, daß für alle vier Parameter die prozentuale Differenz am 2. p.o. Tag am größten und hochsignifikant war.
Um zu prüfen, ob und in wie weit die Häufigkeitsverteilungen von Flächen- und Umfangslängen der Teilhepatektomierten sich von denen der Scheinoperierten, für die jeweiligen p.o. Zeiträume, statistisch unterscheiden, wurde der Test von Kolmogoroff und Smirnoff angewandt, der als schärfster Homogenitätstest Unterschiede der Verteilungsform aufzeigt. Auch hier traten, wie bei den Mittelwertsdifferenzen, die größten Unterschiede am 2. p.o. Tag auf.

Bei der Interpretation unserer Ergebnisse besteht der hauptsächlichste Befund darin, daß bei den Teilhepatektomierten die Mitochondrien kleineren Volumens einen größeren Anteil in der Gesamtmitochondrienpopulation einnehmen,

als bei den Scheinoperierten,wobei dieses Phänomen am ausgeprägtesten zwischen 43 und 57 Std. p.o. auftritt. Diese Ergebnisse stimmen auch sehr gut mit Untersuchungsbefunden von Gear (1971) überein,während Bade (1964) solche Veränderungen 12-24 Std. p.o.,Rohr u. Mitarb. (197o) 24-36 Std. p.o. beschreibt.
Es ist auch keineswegs klar,warum es in der Frühphase (4-17 Std. p.o.) bei Teilhepatektomierten zu einem vermehrten Auftreten größerer Mitochondrien kommt,als im Kontrollkollektiv.Es ist jedoch denkbar,daß diese Mitochondrien einen echten Wachstumsvorgang durchmachen, ähnlich der initialen Vergrößerung der Mitochondrien beim postnatalen Wachstum der Leber,oder durch Verschmelzung von kleinen Mitochondrien entstehen.
Für eine zeitliche Korrelation der Mitochondrienvermehrung mit der Kern- und Zellteilung,wie sie bei synchronisierten Amöben und in Hefezellen beobachtet wurde, fanden wir im vorliegenden Material keinen Hinweis.

Abb. 1
Morphometrische Parameter für Leberzellmitochondrien, aufgeschlüsselt nach dem tageszeitabhängigen Verlauf in den verschiedenen Serien.
Die Zahlen auf der Abszisse geben die Uhrzeit an.

nach Teilhepatektomien: ————
nach Scheinoperationen: - - - - - -

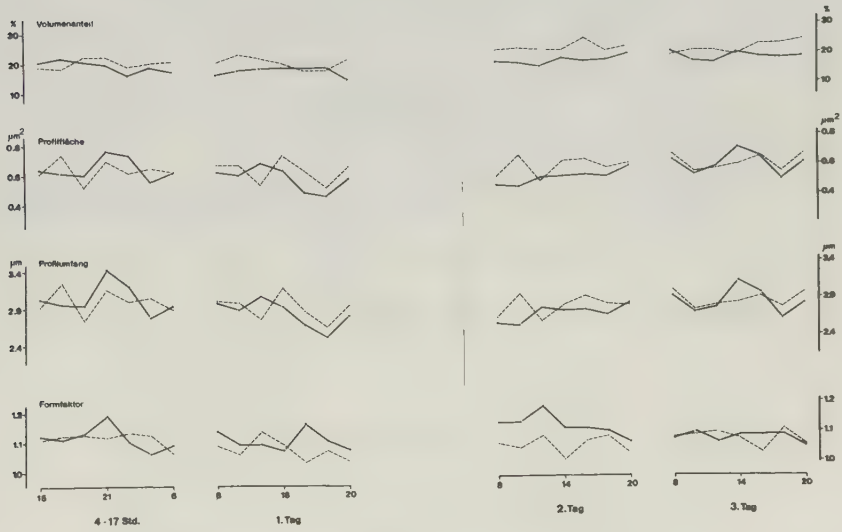

Abb. 1

Abb. 2-5
Absolute und relative kummulative Häufigkeiten für die Profilfläche der Mitochondrien

nach Teilhepatektomien: ————
nach Scheinoperationen: - - - - -

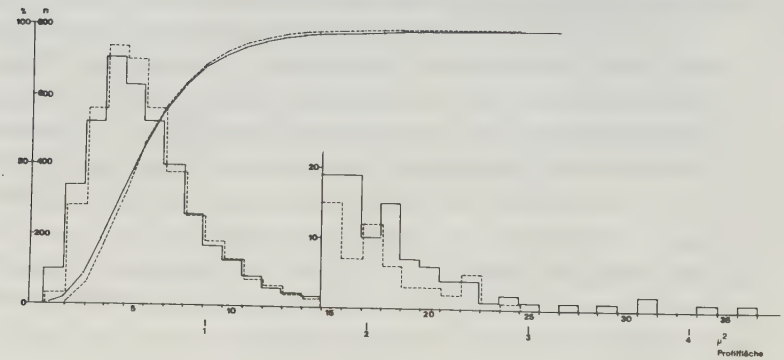

Abb. 2 4-17 Std.

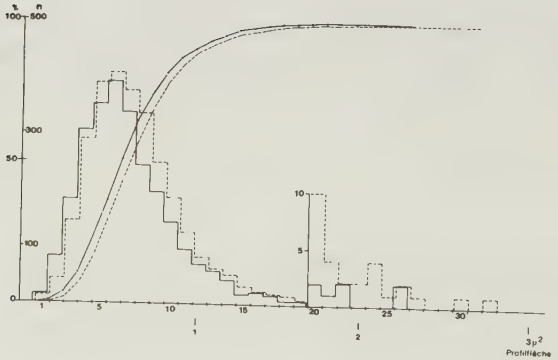

Abb. 3 19-33 Std.

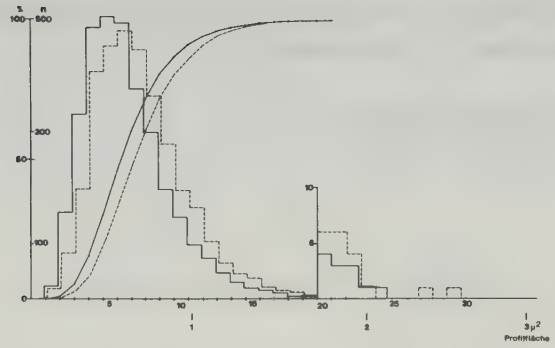

Abb. 4 43-57 Std.

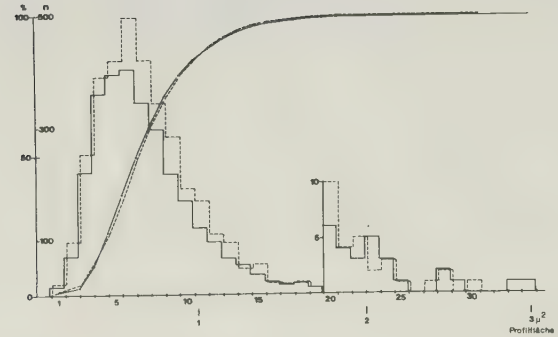

Abb.5 67-81 Std.

Abb. 6-9
Absolute und relative kummulative Häufigkeiten für die Profilumfänge der Mitochondrien

nach Teilhepatektomien: ————
nach Scheinoperationen: - — - —

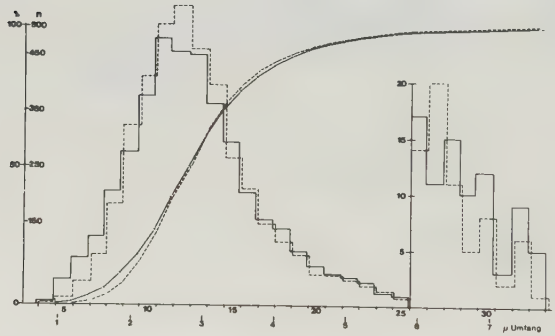

Abb.6 4-17 Std.

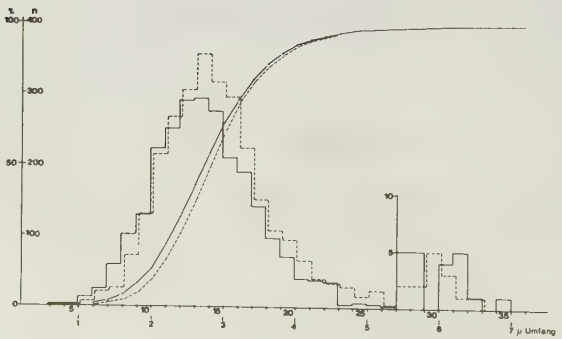

Abb.7 10-11 Std.

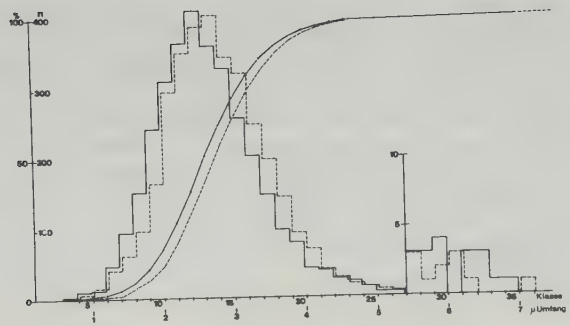

Abb. 8 43-57 Std.

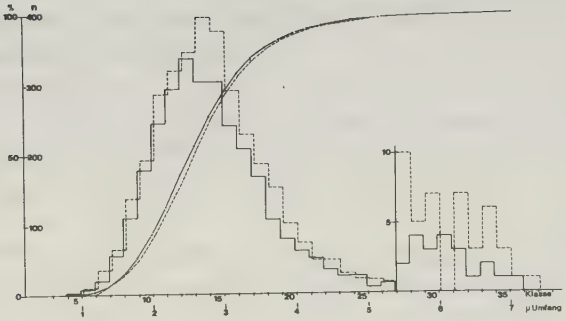

Abb. 9 67-81 Std.

Volumenanteil (%)

Serie	Schein-Op.	2/3 Teilhep.	% Änderung	t-Test
1	2o,8 ± o,4	19,7 ± o,5	- 5,2	n. s.
2	2o,5 ± o,4	17,7 ± o,4	- 13,5	$p < o,o2$
3	22,o ± o,4	17,8 ± o,4	- 19,3	$p < o,oo1$
4	21,8 ± o,6	18,9 ± o,4	- 13,6	$p < o,o1$

Profilfläche (μm)

1	o,641 ± o,o26	o,654 ± o,o29	+ 2,o	n. s.
2	o,631 ± o,o29	o,58o ± o,o31	- 8,1	n. s.
3	o,591 ± o,o23	o,515 ± o,o18	- 12,9	$p < o,o5$
4	o,61o ± o,o21	o,6o3 ± o,o28	- 1,1	n. s.

Profilumfang (μ^2)

1	3,oo ± o,o64	3,o4 ± o,o82	+ 1,3	n. s.
2	2,9o ± o,o67	2,83 ± o,o73	- 2,4	n. s.
3	2,79 ± o,o5o	2,69 ± o,o41	- 3,5	n. s.
4	2,87 ± o,o4o	2,85 ± o,o65	- o,7	n. s.

Formfaktor

1	1,14 ± o,oo9	1,12 ± o,o16	- 1,8	n. s.
2	1,o7 ± o,o13	1,1o ± o,o12	+ 2,7	n. s.
3	1,o5 ± o,o11	1,12 ± o,o13	+ 6,3	$p < o,oo5$
4	1,o8 ± o,1o	1,o8 ± o,oo6	+ o,o	n. s.

Tabelle I

Mittelwerte, Standardfehler sowie statistische Signifikanz des Unterschiedes zwischen Scheinoperierten und Teilhepatektomierten.

Die Werte wurden errechnet aus den in Tab.I dargestellten Einzelwerten.

Zeit	D Längen	D Flächen	D (o,o5)	D (o,o1)	D (o,oo1)	Signifikanz Längen	Signifikanz Flächen
4-17 Std	o,o3o68	o,o3oo4	o,o3oo3	o,o36o1	o,o43o8	o,o5	o,o5
1.Tag	o,o552o	o,o62o2	o,o3688	o,o4421	o,o5288	o,oo1	o,oo1
2.Tag	o,o839	o,11996	o,o3332	o,o3994	o,o4778	o,oo1	o,oo1
3.Tag	o,o213	o,o2oo3	o,o3424	o,o4o92	o,o4895	o,o5	o,o5

Tabelle II

Statistische Analyse der Häufigkeitsverteilungen für Längen und Flächen der Mitochondrienprofile (vergleiche Abb. 2-9) nach Kolmogoroff und Smirnoff.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Altmann, H.-W.
Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen
Verh. Dtsch.Ges.Path. 5o, 15 - 53 (1966)

2) Bade, E.G.
Bildung von Mitochondrien in der regenerierenden Leber der Maus
Zellforsch. 61, 754 - 768 (1964)

3) Bogenhagen, D. und Clayton, D.A.
Mouse L Cell Mitochondrial DNA Molecules Are Selected Randolmy for Replication throughout the Cell Cycle
Cell. Vol. 11, 719 - 727 (1977)

4) Cottrell, S.F. and Avers C.J.
Evidence of mitochondrial synchrony in synchronous cell cultures of yeast
Biochem. Biophys. Res. Commun. 38, 973 - 98o (197o)

5) Cuppage, F.E.; Chiga, M.; Tate, A.
Mitochondrial Proliferation within Nephron
Comparison of Mitochondrial Hyperplasia of Tubular Regeneration within Compensatory Hypertrophy
Am. J.Pathol. 7o, 119 (1973)

6) Gear, A.R.L.
Changes in particle volume and numbers during mitochondrial biogenesis in regenerating liver
(Fe. Proc. 3o, 1o11 (1971)

7) Higgins, G.M.; Anderson, R.M.
Experimental pathology of the liver
I. Restoration of the liver of ten white rats following partial surgical removal
Arch. Path. 12, 186 - 2o2 (1931)

8) Kimberg, D.V.; Loch, J.
Effects of cortisone administration on rat liver mitochondria
J. Cell Biol. 55, 635 -643 (1972)

9) Kolb-Bachofen, V.; Vogell, W.
Mitochondrial proliferation synchronized cells of Tetrahymena pyriformis
A morphometric study by electron microscopy on the biogenesis of mitochondria during the cell cycle
Exptl. Cell Res. 94 , 95 -1o5 (1975)

1o) Loud, A.V.A.
A quantitave stereological description of the ultrastrukture of normal rat liver parenchymal cells
Cell Biol. 37, 27 (1968)

11) Pfeifer, U.
Inhibited Autophagic Degradation of Cytoplasm during Compensatory Growth of Liver Cells After Partial Hepatectomy
Virchows Arch. B. Cell Path. 3o, 313 – 333 (1979)

12) Posakony, J. W.; England, J.M.; Attardi, G.
Mitochondrial growth and division during the cell cycle in HeLa cells.With appendix by J.N. Franklin on of threedimensional measurements made on all sections
J. Cell Biol. 74, 468 -491 (1977)

13) Rabes, H.M.; Wirsching, R.; Tuczek, H.-V.; Iseler, G.
Analysis of cell cycle compartments of hepatocytes after partial hepatectomy
Cell Tiss. Kinet. 9, 517 - 532 (1976)

14) Rohr, H.P.; Wirz, A.; Henning, L.C.; Riede, U.N.; Bianchi, L.
Morphometric Analysis of the Rat Liver Cell in the Perinatal Period
Lab. Invest. 24, (128 - 139)

15) Rohr, H.P.; Strebel, J.; Bianchi, L.
Ultrastrukturell-morphometrische Untersuchungen an der Rattenleberparenchymzelle in der Frühphase der Regeneration nach part. Hepatektomie
Beitr. Pathol. 141, 52 - 74 (197o)

16) Stöcker, E.
Der Proliferationsmodus in der Niere und Leber
Verh. Dtsch. Ges. Path. 5o, 53 - 74 (1966)

17) Stöcker, E.; Heine, W.-D.
Proliferation und Regeneration in Leber und Niere der juvenilen Ratte. Autoradiographische Untersuchungen nach ^{3}H-Thymidin Dauerinfusion
Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 483 -487 (1971)

18) Storrie, B.; Attardi, G.
Mode of mitochondrial formation in HeLa cells
J. Cell Biol. 56, 833 -838 (1973)

19) Tandler, B.; Hoppel, C.L.
Division of giant mitochondria during recovery from cuprizone intoxication
J. Cell Biol. 56, 266 -272 (1973)

2o) Weibel, E.R.
Stereological principles for morphometry in electron-microscopic cytology
Int. Rev. Cytol. 26, 235 - 3o2 (1969)

Lebenslauf

Höhn Thomas, geb. am 4. August 1951 in Kulmbach als 1. Kind des Dipl. Optikers Hans Höhn und seiner Ehefrau Hedi geb. Schieber..

Schulausbildung

1957	Einschulung in die Volksschule Blaich, Kulmbach
1961	Übertritt in das Markgraf-Georg-Friedrich-Gymnasium in Kulmbach
2o. o6. 197o	Reifeprüfung
o1. 1o. 197o	Einberufung zur Bundeswehr
15. o4.. 1971	Vorzeitige Entlassung aufgrund § 29 Abs. 4 des Wehrpflichtgesetzes (Freistellung für das Studium der Human-Medizin)

Studiengang

SS 1971	Immatrikulation für das Fach Human-Medizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
16. 12. 1976	Staatsexamen
o1. o6. 1977- 31. o7. 1978	Medizinalassistentenzeit o1. o6. 77 – 31. o3. 78 St. Elisabeth-Krankenhaus Bad Kissingen o1. o4. 78 – 31. o7. 78 Rhön-Klinikum Bad Neustadt/S..

Ausbildung als Assistenzarzt

15. o9. 1978	Chirurgische Abteilung des St. Elisabeth-Krankenhauses Bad Kissingen

gez. Thomas Höhn

Für die freundliche Überlassung des Themas, für die Betreuung und für das Referat danke ich herzlich Herrn Professor Dr. med. U. Pfeifer.

Herrn Professor Dr. med. H.-W. Altmann möchte ich für die Erlaubnis, im Path. Institut arbeiten zu dürfen und für die Übernahme des Korreferates besonders danken.